

## 学位論文審査の結果の要旨

※ 整理番号		ふりがな 氏 名	うわふじ せいこ 上藤 聖子
学位論文題目	Protein-bound Polysaccharide K Reduced the Invasive Ability of Colon Cancer Cell Lines (PSK は大腸癌細胞株の浸潤能を低下させる)		
審査委員	主査 小林 基弘 副査 中本 安成 副査 山口 明夫		
<p>Polysaccharide K (PSK) はカワラタケから抽出された蛋白結合多糖体の非特異的免疫学的治療薬である。臨床的には主に胃癌や大腸癌を含む消化器癌で使用されており、PSK の投与により生存率が有意に向上することが認められている。作用機序としてはアポトーシスの誘導、MHC class-I の発現増加に加えて NK 細胞、T 細胞、LAK 細胞などの免疫関与細胞の活性化、酸化ストレスの軽減が知られているが、癌細胞自身への影響についての検討は少ない。そのため大腸癌の悪性度に関わる細胞の浸潤能に対する PSK の効果と遺伝子学的変化を検討した。</p> <p>大腸癌細胞株 (LoVo、HT29、HCT116) <math>5 \times 10^5</math> 個に PSK 100, 300, 500 <math>\mu\text{g/ml}</math> を投与し、2 日間培養後 Annexin-V-Fluos staining assay を用いて大腸癌細胞の生細胞数を検討した。次に PSK 投与大腸癌細胞において細胞浸潤能に変化をもたらすのか、Biocoat Matrigel 6-well invasion chamber を用いて浸潤細胞数を Hemocytometer にて計測した。続いて同大腸癌細胞から Total RNA を抽出、Prime Script RT reagent kit にて cDNA を作製後、Matrix metalloproteinase (MMP) -2, -9 mRNA の発現を RT-PCR 法で解析した。解析は各遺伝子発現を定量化後に Student <i>t</i>-test、<math>\chi^2</math> 検定にて行った。</p> <p>大腸癌細胞株の生細胞数については PSK 濃度 0, 100, 300 <math>\mu\text{g/ml}</math> 投与群では有意差は認められなかったが、PSK 500 <math>\mu\text{g/ml}</math> 投与群ではアポトーシス・細胞死率の増加が認められた。そこで大腸癌細胞を刺激する PSK の濃度を 300 <math>\mu\text{g/ml}</math> として細胞浸潤能の変化を検討したところ、PSK 非投与群での浸潤細胞数は HCT116 146 個/視野、HT29 81 個/視野、LoVo 65 個/視野であったのに対して、PSK 投与群ではそれぞれ 24、7、4 と有意に低下した。さらに Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法による遺伝子発現を検討すると、減少の程度は細胞株により異なるものの PSK の刺激によりいずれの大腸癌細胞においても MMP-2, -9 の発現は PSK 非投与群に比べて PSK 投与群で有意に減少することが認められた。</p> <p>以上の結果から、PSK の大腸癌細胞への作用として MMP-2, -9 遺伝子の発現を抑制することによって周囲脈管・組織への細胞浸潤性が低下し、ひいては転移率の抑制から生存率の向上に至る可能性が考えられた。</p> <p>本研究は、大腸癌の予後改善に対する PSK の直接的で新しい作用機構の存在を示唆するものであり、本学学位論文として充分価値があるものと判断した。</p> <p style="text-align: right;">(平成 25 年 12 月 9 日)</p>			